

①⑨ RÉPUBLIQUE FRANÇAISE
INSTITUT NATIONAL
DE LA PROPRIÉTÉ INDUSTRIELLE
PARIS

①① N° de publication : 2.123.295
(A utiliser que pour
le classement et les
commandes de reproduction.)

②① N° d'enregistrement national 71.47730
(A utiliser pour les paiements d'annuités
les demandes de copies officielles et toutes
autres correspondances avec l'INPI)

①③ DEMANDE
DE BREVET D'INVENTION

1^{re} PUBLICATION

②② Date de dépôt 31 décembre 1971, à 11 h 39 m.n.
④① Date de la mise à la disposition du
public de la demande..... B.O.P.I. — «Listes» n. 36 du 8-9-1972.

⑤① Classification internationale (Int. Cl.) A 23 c 9/00.

⑦① Déposant : Société dite : CALPIS SHOKUHIN KOGYO KABUSHIKI KAISHA,
résidant au Japon.

Titulaire : *Idem* ⑦①

⑦④ Mandataire : Alain Casalonga, 8, avenue Percier, Paris (8).

⑤④ Procédé d'obtention de produits laitiers fermentés.

⑦② Invention de :

③③ ③② ③① Priorité conventionnelle : *Demande de brevet déposée au Japon le 31 décembre 1970,
n. 123.732/1970 au nom de la demanderesse.*

09/787004

JCO8 Rec'd PCT/PTO 12 MAR 2000

Abstract (Basic): DE 2165655 A

Drinks having pleasant taste, which may contain only a small quantity of alcohol produced by fermentation of glucose and/or galactose, are produced by inoculating plain or skimmed milk with lactic acid bacteria, in particular *Lactobacillus bulgaricus* or *Streptococcus thermophilus*, and yeasts, which do not ferment lactose, but pref. ferment glucose and/or galactose and can assimilate lactic acid (e.g. *Saccharomyces carlsbergensis*).

Title Terms: FERMENTATION; MILK; DRINK; LACTIC; ACID; BACTERIA; YEAST; FERMENTATION; LACTOSE

Derwent Class: D13

International Patent Class (Additional): A23C-009/12

File Segment: CPI

Manual Codes (CPI/A-N): D03-B

La présente invention est relative à un procédé de préparation de produits laitiers fermentés, procédé qui consiste à donner une saveur agréable au lait grâce à la symbiose des ferments lactiques et d'une levure qui ne fermente pas le lactose et qui peut avoir une action symbiotique avec les ferments lactiques précités dans le lait.

L'utilisation de ferments lactiques en association avec une levure est déjà connue dans la technique de la fermentation; le kéfir et le koumis sont produits de cette manière. Les levures utilisées dans la préparation de tels produits sont les levures connues *Saccharomyces kéfir* et *Saccharomyces fragilis*. Ces levures provoquent la fermentation à elles seules et confèrent une saveur agréable au lait. Toutefois, elles sont caractérisées par le fait qu'elles fermentent le lactose et elles fermentent donc le lactose du lait, directement, en produisant alors rapidement une grande quantité d'alcool. Cet alcool provoque la coagulation et la précipitation des protéines du lait dans le lait. En outre, ces produits ont l'inconvénient de dégager une odeur désagréable.

On connaît également des procédés permettant de conférer une saveur agréable au lait en utilisant une levure de boulanger ou une levure de bière. Dans ces procédés, du fait que de telles levures ne fermentent pas le lactose, on ajoute au lait une source de sucre fermentable comme le glucose ou le sucrose pour provoquer la fermentation. En outre, dans ce cas, si une fermentation rapide ou excessive n'est pas empêchée, il se forme une quantité d'alcool excessive ou bien une odeur déplaisante est dégagée, de façon similaire. Par conséquent, diverses tentatives d'amélioration ont été faites. Par exemple, on a proposé un procédé de contrôle de la fermentation consistant à ajuster la température de fermentation avec précision et un procédé d'addition fraction par fraction d'une source d'un sucre fermentable avec la propagation de la levure, etc. Ces procédés sont assez compliqués et nécessitent certaines installations particulières. De plus, même avec de telles améliorations, la saveur n'était pas encore suffisamment satisfaisante.

Selon la présente invention, des produits laitiers fermentés ayant une saveur agréable sont obtenus par fermentation du lait en présence simultanément d'un ferment lactique, à savoir *Lactobacillus bulgaricus* ou *Streptococcus thermophilus*, et d'une levure ne fermentant pas le lactose, qui montre un

effet symbiotique avec le ferment lactique. Des constituants donnant une saveur agréable sont produits par la levure à partir d'une faible quantité de glucose ou de galactose qui sont formés au cours de la fermentation donnant de l'acide lactique qui est
5 due aux ferments lactiques. En outre, dans de telles conditions de symbiose, cette levure ne donne qu'une faible quantité d'alcool et ne provoque donc pas la précipitation des protéines du lait.

Le terme "symbiose" tel qu'il est utilisé ici s'applique
10 à un phénomène selon lequel une levure ne peut pas fermenter lorsqu'elle existe seule dans le lait, mais peut provoquer une fermentation si elle est associée à un ferment lactique.

Les ferments lactiques utilisés dans la présente invention comprennent les ferments tels que *Lactobacillus bulgaricus*
15 et *Streptococcus thermophilus*.

Les levures utilisées dans la présente invention sont celles qui sont classées dans le genre *Saccharomyces* ou le genre *Candida*. On peut choisir n'importe laquelle des levures connues mentionnées dans la littérature, c'est-à-dire celles qui peuvent
20 fermenter le glucose et/ou le galactose mais qui ne peuvent pas fermenter le lactose dans l'essai de fermentation des sucres et qui sont capables d'assimiler l'acide lactique dans l'essai d'assimilation des sources de carbone par la méthode habituelle (J. Lodder, N. J. W. Kreger-Van Riji; *The yeasts, A taxonomic Study*, 1952).
25

En outre, ces levures ne provoquent pas seules la fermentation du lait. Toutefois, quand elles sont associées avec les ferments lactiques utiles, elles fermentent le glucose ou le galactose qui sont engendrés en faible quantité pendant la fermentation de l'acide lactique pour donner une saveur agréable.
30 La quantité d'alcool produite est cependant faible. En outre, quand on fait fermenter du lait contenant du glucose en utilisant uniquement ladite levure, il se produit une fermentation excessive qui précipite les protéines du lait et dégage une odeur déplaisante.
35

La présente invention a donc pour objet un procédé de production de produits laitiers fermentés, qui est basé sur le fait bien connu que, lorsque du lait est fermenté en présence de ferments lactiques utiles en même temps que d'une levure ne
40 fermentant pas le lactose et pouvant montrer un effet symbiotique

- avec ces ferments lactiques, des constituants donnant une saveur agréable peuvent être produits grâce à cet effet symbiotique, simultanément avec l'acide lactique. Dans la présente invention, il est possible d'utiliser deux genres de ferments lactiques et pas moins de deux genres de levures.

5. Pour mieux contrôler la production, il est plus avantageux d'ajouter au lait un amorceur contenant la levure ainsi que le ferment utilisés dans la présente invention. Toutefois, on peut également ajouter au lait des amorceurs distincts contenant
10 respectivement le bacille lactique et la levure.

Le lait pouvant être utilisé dans le procédé de la présente invention comprend par exemple le lait animal, le lait entier frais, le lait écrémé frais, le lait entier reconstitué et le lait écrémé reconstitué.

- 15 On comprendra mieux la présente invention à la lecture des expériences qu'on va décrire.

Expérience 1

- On dissout 1 partie en poids de lait écrémé en poudre dans 9 parties en poids d'eau et on chauffe ensuite la solution à 120°C pendant 15 minutes pour préparer un milieu de culture. On inocule chacun des milieux avec diverses sortes de ferments lactiques utiles provenant de stock-cultures. Après culture à 37°C pendant 30 heures, on mesure les quantités de glucose produites par la méthode enzymatique [N.M. Papadopoulos, W.C. Hess; 25 Arch. Biochem. Biophys. 88, 167 (1960)]. Les résultats sont donnés dans le tableau 1. Les ferments lactiques, à l'exception de Lactobacillus bulgaricus et de Streptococcus thermophilus ne produisent pas de quantités sensibles de glucose. On peut donc en déduire que les ferments lactiques, à l'exception des deux ferments
30 susmentionnés, ne conviennent pas aux fins de la présente invention.

Tableau 1

Type de ferment lactique	Quantité de glucose produite (%)
L. Bulgaricus ATCC 11842	0,15
35 Str. thermophilus ATCC 19258	0,12
L. lactis ATCC 8000	trace
L. casei ATCC 7469	trace
L. acidophilus ATCC 9857	trace
Str. lactis ATCC 19435	trace

71 47730

4

2123295

Tableau 1 (suite)

Type de ferment lactique	Quantité de glucose produite (%)
Str. faecalis ATCC 8043	trace
Str. diacetylactis ATCC 13675	trace
5 Leu. citrovorum ATCC 8081	trace
Leu. dextranicum ATCC 19255	trace

Expérience 2

- On mélange *Lactobacillus bulgaricus* et chacune des diverses levures mentionnées ci-après et on inocule dans un milieu identique à celui qui est utilisé dans l'expérience 1. Après culture à 37°C pendant 30 heures, on détermine la quantité de constituants donnant une saveur agréable produite, la quantité d'alcool obtenue et la précipitation provoquée par l'alcool, et on oppose ces résultats à la fermentabilité des sucres et à l'assimilation de l'acide lactique pour chacune des levures. Les résultats sont donnés dans le tableau 2.
- 10
- 15

Tableau 2

Genre de levure	Fermentation des sucres			Assimi- lation d'acide lactique	Quantité d'alcool produite (%)	Précipi- tation des protéines du lait	Saveur
	Glucose	Galactose	Lactose				
Saccharomyces carlsbergensis ATCC 9080	+	+	-	+	0,086	-	Bonne
Saccharomyces chevalieri ATCC 10604	+	+	-	+	0,081	-	Bonne
Candida utilis ATCC 8206	+	-	-	+	0,024	-	Bonne (faible)
Saccharomyces rouxii ATCC 2619	+	-	-	-	Trace	-	Ni bonne ni mauvaise
Saccharomyces fragilis ATCC 8608	+	+	+	+	0,449	+	Odeur désagréable

Expérience 3

- On soumet du lait à une pasteurisation rapide à 90°C et on inocule ce lait avec *Lactobacillus bulgaricus*. En outre, on soumet ce même milieu à une inoculation mixte de *Lactobacillus bulgaricus* et de la levure susmentionnée, *Saccharomyces carlsbergensis* qui sont capables de manifester un phénomène de symbiose. On fait fermenter les deux milieux à 37°C pendant 24 heures. Quand les quantités d'acide lactique atteignent environ 2% en poids, on stérilise chacune des cultures de lait fermenté.
- 10 Ensuite, à 50 parties en poids de chaque lait fermenté, on ajoute 50 parties en poids de sucre et, après dissolution de ce sucre, on obtient des produits laitiers fermentés. On dilue chacun de ces produits à 5 fois son volume pour former des boissons. On soumet ces échantillons à des tests de différence et de préférence
- 15 au moyen du test en triangle par un jury comprenant 40 personnes (20 hommes et 20 femmes).

On obtient les résultats suivants:

- | | | |
|----|---------------------------|---|
| | <u>Test de différence</u> | Les 40 personnes donnent la réponse correcte.
Réponse correcte: 100% |
| 20 | <u>Test de préférence</u> | Personnes qui préfèrent le produit préparé uniquement avec l'amorceur contenant le ferment lactique:

2 personnes |
| 25 | | Personnes qui préfèrent le produit préparé avec l'amorceur contenant le ferment lactique et la levure:

38 personnes ** |
| 30 | | (Le signe "***" montre une différence significative pour un seuil de signification de 0,1%). |

La présente invention est encore illustrée par l'exemple suivant.

Exemple

- On stérilise à 120°C pendant 15 minutes un flacon stérilisé à l'air chaud et contenant 100 ml de lait écrémé. On inocule *Lactobacillus bulgaricus* dans ce milieu et on cultive à 37°C jusqu'à ce que la teneur en acide lactique atteigne 2% en poids. Par ailleurs, on cultive *Saccharomyces carlsbergensis* dans un milieu à l'extrait de malt ordinaire, puis on recueille dans des conditions stériles et on lave. On inocule environ 2×10^6 cellules de cette levure lavées à 1 ml de la culture de ferment lactique dans le lait écrémé, puis on cultive le mélange à 25°C pendant 24

heures. On inocule cette solution de culture mixte dans le lait écrémé qui a été stérilisé à 120°C pendant 3 secondes, en une quantité de 3% en volume, sur la base du lait écrémé. Après culture à 37°C pendant 24 heures, la teneur en acide lactique atteint
5 environ 2% en poids et le nombre des cellules de levure se monte à environ 6×10^6 cellules par ml de lait écrémé. On utilise cette culture-mère comme amorceur initial.

On prépare l'amorceur proprement dit en inoculant l'amorceur initial dans le lait écrémé soumis à une pasteurisation
10 haute à 90°C, en une quantité de 3% en volume par rapport au lait écrémé, et en cultivant le produit inoculé dans des conditions similaires à celles qui ont été utilisées lors de la préparation de l'amorceur initial.

Pour obtenir un produit laitier fermenté sous forme de
15 boisson, après que 3% en poids de l'amorceur proprement dit ont été inoculés dans le lait écrémé qui a été soumis à une pasteurisation rapide à 90°C ou traité dans des conditions similaires de stérilisation et intimement mélangé, on fermente le milieu constitué par le lait écrémé, à 37°C, pendant 24 heures. Dans ce cas,
20 la teneur en acide lactique atteint environ 2% en poids et la quantité d'alcool formé atteint environ 0,1% en poids. Ensuite, on mélange et on dissout 50 parties en poids de sucre et 0,5 partie en poids d'agents aromatisants avec 50 parties en poids du lait acide susmentionné. On stérilise alors le lait traité
25 et on le met en bouteilles pour constituer le produit à consommer final.

Pour que ce produit convienne pour la boisson, on le dilue avec de l'eau ou avec de l'eau carbonatée jusqu'à 4 - 5 fois son volume de préférence.

REVENDICATIONS

1. Procédé de préparation de produits laitiers fermentés, caractérisé par le fait qu'il consiste à fermenter du lait en présence simultanément d'un ferment lactique, à savoir *Lactobacillus bulgaricus* ou *Streptococcus thermophilus* et d'une levure ne fermentant pas le lactose, cette fermentation étant due à la symbiose du ferment lactique et de la levure.
2. Procédé selon la revendication 1, caractérisé par le fait que la levure ne fermentant pas le lactose est une levure qui est capable de fermenter le glucose et/ou le galactose et qui est capable d'assimiler l'acide lactique.
3. Procédé selon la revendication 1, caractérisé par le fait que le lait est du lait animal, du lait entier frais, du lait écrémé frais, du lait entier reconstitué ou du lait écrémé reconstitué.
4. Procédé selon la revendication 1, caractérisé par le fait que, dans la production des produits laitiers fermentés, un amorceur contenant le ferment lactique et la levure est ajouté au lait, ou que deux types d'amorceurs contenant respectivement un ferment lactique et de la levure sont ajoutés séparément au lait.
5. Procédé selon la revendication 1, caractérisé par le fait que l'on peut utiliser deux types de ferments lactiques et pas moins de deux types de levure pour obtenir la présence simultanée de ferments lactiques et de levure.
6. Produits laitiers fermentés obtenus en faisant fermenter du lait en présence simultanément d'un ferment lactique tel que *Lactobacillus bulgaricus* ou *Streptococcus thermophilus* et d'une levure ne fermentant pas le lactose, cette fermentation étant due à la symbiose du ferment lactique et de la levure.